Ettan IPGphor II

Isoelectric Focusing Unit

操作マニュアル

71-1466-33

GE imagination at work

注意！ ユーザーの皆様へ

製品を安全かつ有効にお使いいただくため、このマニュアル全体をお読みになりご理解いただくようお願い申し上げます。

印は、高電圧による危険の可能性を警告するものです。

製品内容、使用方法等につきましては、下記までご連絡ください。

GEヘルスケア バイオサイエンス株式会社
バイオダイレクトライン　TEL : 03-5331-9336
FAX : 03-5331-9370
e-mail ：Tech-JP@ge.com

製品の仕様は予告なしに変更する場合があります。

保証および責任について

保証と責任の範囲

本製品は、公表されている仕様に適合した検査済みのものであることを保証します。出荷時の状態を含めて、本製品に添付されている取扱説明書に従って取付けし、使用された場合に限り、本製品の保証を行います。
偶然の事故やそれに伴う損失については、一切の責任を負いません。また、本製品の誤った使用による損益や業務停滞などについても、一切の責任を負いません。

全ての著作権は、GE Healthcareが所有します。正式に文書として発行されたGE Healthcareの許可がない場合は、いかなる意味、方法、場合においても、本取扱説明書の複製や改定、複写、配布、検索システムなどの作成や引用、転載を禁じます。

Contents

1. Ettan IPGphor II 等電点電気泳動装置の機能と解説

1.1. 開梱 2
1.2. 装置構成 3
1.3. 重要事項 6
1.4. 仕様 7

2. 装置のセットアップ

2.1. 装置の設置 8
2.2. 電源について 8
2.3. オプション：コンピューターまたはプリンターとの接続シリアルポート 8

3. 装置の取り扱い

3.1. 電源をいれる 9
3.2. プロトコールの作成と入力 10
3.2.1. プロトコールパラメーター
3.2.2. プロトコールパラメーターの入力
3.2.3. プロトコール名の入力
3.3. IPGストリップの膨潤とサンプル添加―Strip Holder の場合 16
3.4. IPGストリップの膨潤とサンプル添加―Cup Loading Strip Holder の場合 18
3.5 IPGストリップの膨潤とサンプル添加―Cup Loading Manifold の場合 19
3.6. 泳動 20
3.6.1. 泳動準備
3.6.2. 等電点電気泳動の開始
3.6.3. プロトコールの一時停止と終了
3.6.4. 泳動状態の印刷

4. メンテナンス

4.1. 重要事項 24
4.2. クリーニング 24
4.3. ヒューズの交換 25

5. トラブルシューティング 26

6. FAQ ― 頻繁に寄せられるご質問 27

7. カスタマーサービスインフォメーション

7.1. テクニカルサービスと修理 30
7.2. ご注文情報 30
プロトコール ワークシート 32

1 Ettan IPGphor II 等電点電気泳動装置の機能と解説

Ettan IPGphor II は二次元（2-D）電気泳動法の一次元目等電点電気泳動（Isoelectric Focusing:IEF）を行うための電気泳動装置です。この装置は、固定化pH勾配（Immobilized pH gradient:IPG）ゲルのImmobiline DryStrip（IPGストリップ）の膨潤から泳動までを続けて行うことができるように開発されたチャンバー（Strip Holder、Cup Loading Strip Holderまたは Cup Loading Manifold：別売）を用いて泳動を行います。本体は、高電圧出力のパワーサプライと高精度の温度コントロールを行うことができるペルティエ冷却装置を備えています。また泳動条件を10種類までプログラムし、保存することができます。

プログラム可能な機能は下記の通りです。

○ 膨潤時間
○ プラットフォーム温度（ストリップホルダー設置箇所の温度の設定）
○ 電流上限値
○ 電圧変化パターン
○ 泳動プログラムの各ステップの電圧
○ 泳動プログラムの各ステップの時間

IPGストリップには7, 11, 13, 18, 24 cmの5種類の泳動長、10種類のpHレンジ、直線勾配、 非直線勾配（NL）の2種類のpH勾配があります（セクション7.2.ご注文情報を参照ください）。

Strip Holderは各IPGストリップの長さに応じてお選びください。Strip HolderにIPGストリップをセットし、Ettan IPGphor本体のプラットフォームに設置した後、プログラムを開始します。サンプル添加は膨潤液にサンプルをまぜ、膨潤すると同時にIPGストリップ内に添加する方法と膨潤後Strip Holder内に添加する方法があります。同じ長さのIPGストリップを12本まで1度に泳動できます。

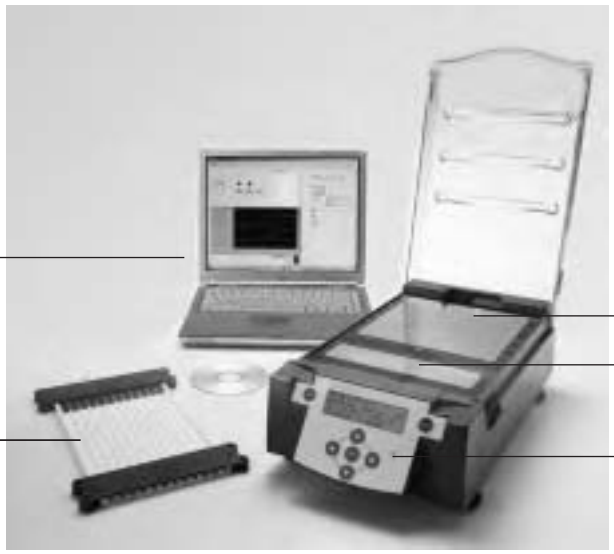
Cup Loading Strip Holderは7～24 cmのIPGストリップに使用できます。膨潤済のIPGストリップをホルダー内に置き、サンプルカップを任意のpH領域にセットします。 Cup Loading Strip Holderを用いた場合、Ettan IPGphor IIで同時に9本までの泳動が可能です。

Cup Loading Manifoldは7～24 cmのいずれのIPGストリップにも使用できます。任意の位置にサンプルカップをセットし、サンプルを添加できます。同じ長さのIPGストリップを最大12本同時に泳動可能です。

1.1. 開梱

全てのパッケージを注意しながら開封し、パッキングリストと見合わせて全てのパーツが揃っているか確認します。もし欠品や破損がございましたらGEヘルスケア バイオサイエンスまでご連絡ください。

1.2. 装置構成

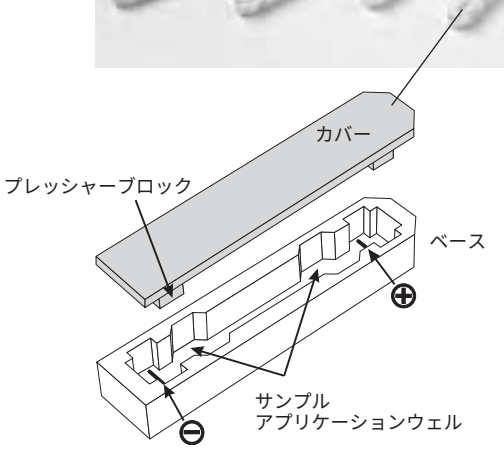


※ 各泳動長のIPGストリップに対応する5種類（7, 11, 13, 18, 24 cm）の長さのStrip Holderがあります。Cup Loading Strip Holder 、Cup Loading Manifoldも使用できます。

Note:

異なる長さのIPGストリップは同時に泳動できません。泳動の際は全て同じ長さのIPGストリップを使用してください。

Strip Holder



コントロールパネル

Ettan IPGphor II はメンブレンキーパット上の7つのキーでコントロールします。装置の状態はLCDスクリーンに表示されます。

LCDスクリーン

メイン画面は"Protocol #1, File 1."です。カーソルの初期設定は、プロトコールナンバーの"1"です。↑↓キーを押して必要なプロトコールのナンバーを表示し選択します。選択したプロトコールをスタートさせるとLCDスクリーンには通常、実行しているステップの各パラメーターが表示されます。

"edit mode"ではプログラムできるパラメーターがLCDスクリーンに表示されます。← →キーを使って入力するパラメーター位置にカーソルを移し、↑↓キーを押して値を入力します。

コマンドキー

EDIT： プロトコールステップを入力する"edit mode"へ切り替えます（セクション3.2をご参照ください）。edit mode表示の状態でEDITキーを押すと入力したプロトコールの確認画面に表示が切り替わります。

←： カーソルを左に動かします。カーソルがスクリーンの上段左端にある状態で←キーを押すとカーソルは下段左端に移ります。4行目末尾までいったカーソルは←キーで再び最上段の左端に移ります。

→： カーソルを右に動かします。カーソルがスクリーンの下段右端にある状態で→キーを押すとカーソルは上段左端に移ります。4行目末尾までいったカーソルは←キーで再び最上段の左端に移ります。

↑： 選択した枠の値や数値を上げます。

↓： 選択した枠の値や数値を下げます。

START：選択したプロトコールプログラムを開始します。

STOP： 実行しているプロトコールプログラムを一時停止します。STOPキーを2度押すと実行しているプロトコールプログラムを強制終了します。

HV ONインディケーターランプ HV ONランプは高電圧出力パワーサプライが作動中（等電点電気泳動が実行中）であることを示しています。またこのランプは膨潤プロトコール実行中には点灯しません。

プラットフォーム

同じ長さのストリップホルダーを、12本まで膨潤し続いて泳動することができます。ストリップホルダーをプラットフォーム上に設置します。プラットフォーム上の電極板がストリップホルダー／Manifoldの電極と接触し、パワーサプライと接続されます。プラットフォームの温度はペルティエ素子モジュールによって制御されます。

電極板

陽陰両電極板は金メッキ銅板でできています。ストリップホルダー／Manifoldを置くことで両電極板を橋渡しすることになり、安全リッドを閉めると電気回路をつくるように設計されています。各ストリップホルダーは正しい位置に設置してください。

※ Manifoldの設置方法の詳細は、Manifoldに添付のマニュアルをご参照ください。

陰電極板（−）： 幅の狭い陰電極板上にストリップホルダーのフラットエンド（角のある側、塩基性側）をのせ、ストリップホルダー底部の電極と電極板が接触していることを確認します。

陽電極板（＋）： ストリップホルダーのポイントエンド（角の落としてある側、酸性側）が奥に向くようにセットし、ストリップホルダー底部の電極と幅の広い陽電極板が接触していることを確認します。使用するストリップホルダーの長さに応じて、ストリップホルダーの先端をプラットフォーム上のガイド（7, 11, 13, 18, 24 cm）にあわせます。

安全リッド

安全リッドは通電前に確実に閉めてください。安全リッドの内側についているプレッシャーパッドがストリップホルダーの位置を固定します。電気的接触を確実にするために、最低2つのパッドが各ストリップホルダーのカバーに接触するようにしてください。

ストリップホルダー

Strip Holder

Strip Holderは熱伝導性の高い酸化アルミニウムセラミックでできています。この材質は落としたり倒したりすると破損する可能性がありますので、取扱いにはご注意ください。セラミック表面にはタンパク質の吸着を防ぐ特殊加工が施されているため、洗浄には必ず製品添付のストリップホルダー洗浄液を使用してください。

Strip Holderは、両端の形状がフラットエンド（角のある側）とポイントエンド（角の落としてある側）になっています。ポイントエンドは陽極側であることを示し、さらにIPGストリップのpH勾配の酸性側末端であることも示しています。IPGストリップは酸性側（ポイントエンドあるいは“＋”の表示がある側）がStrip Holderのポイントエンド側になるようにセットします。Strip Holderにはめ込まれている電極線は、電極板とIPGストリップとを電気的に接触させます。

サンプルウェル

Strip Holderには、サンプルを添加するサンプルウェルが2ヶ所あります。各サンプルウェルにはサンプルを15 µlまで添加できます（両ウェルで30 µlまで）。膨潤液にサンプルを加えなかった場合、膨潤後サンプルウェルにサンプルを添加します。

カバー

カバーは膨潤中、IPGストリップを保護します。また、泳動中は電気分解によって生じるガスを逃し、継続的に通電を確実に行うために電極線上にゲルを押さえつけます。透明カバーなので膨潤・泳動の進行状態を目視できます。

Cup Loading Strip Holder

Cup Loading Strip Holderには底面と側面に金属板がはめ込まれている部分が2箇所あり、Ettan IPGphor IIのプラットフォームにある電極板に接触します。 ホルダー内に突起があることにより、IPGストリップがホルダーの中央にまっすぐにセットできます。陽極側の先端は角が落ちた形状になっており、IPGストリップをセットする方向を示しています。

Cup Loading Manifold

Cup Loading Manifoldでは最大12本のストリップを同時に泳動することができます。サンプルカップを用いても、ろ紙を用いるbridge loadingでもサンプルを添加できます。まず、IPGストリップを膨潤トレイで膨潤させてから泳動します。Manifold自体は膨潤には使用できません。

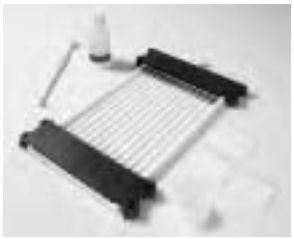
Electrodes（電極）

Cup Loading Manifoldの電極（両端）にある金色の突起がEttan IPGphor IIのプラットフォームにある電極版に接触するように設置します。

Sample Cup（サンプルカップ）

サンプルカップはホルダーの任意の位置にセットできます（突起のある箇所を除く）。カップの脚がホルダーの底の部分に完全に接触するように設置します。

■ ストリップホルダー選択ガイド

	Strip Holder	Cup Loading Strip Holder	Cup Loading Manifold
			
目的	膨潤から泳動までを自動化し、簡便に泳動を行いたい場合に	塩基性側の分離を改善したい場合に	塩基性側の分離を改善し、かつ多数のImmobiline DryStripを泳動したい場合に
泳動可能な最大ストリップ本数	12本	9本	12本
販売単位	1本または6本	3本	1台（12本）
サンプル添加	膨潤液と混合して添加、膨潤後に添加	膨潤液と混合して添加、可動式サンプルカップで添加	膨潤液と混合して添加、可動式サンプルカップで添加
対応Immobiline DryStrip長	7、11、13、18、24 cm	7、11、13、18、24 cm	7、11、13、18、24 cm
膨潤	Strip Holder内で可能	Immobiline DryStrip Reswelling Tray（別売）で膨潤	Immobiline DryStrip Reswelling Tray（別売）で膨潤
膨潤から泳動までの自動化	可能	不可	不可

※ いずれのストリップホルダーの場合でも、同時に複数のImmobiline DryStripを泳動する場合は、長さとpHレンジを同一にそろえる必要があります。

1.3. 重要事項

装置の操作

- ➡ 注意！Ettan IPGphor II は高電圧出力装置です。もし安全機能が損なわれた場合には致命的な電気的衝撃を与える可能性があります。安全リッドはプロトコールを始める前に確実に閉めてください。
- ➡ 推奨している電流上限値（IPGストリップ 1本あたり50 µA）を超えた場合、装置に多大な損害を与え、IPGストリップが焦げる原因になります。
- ➡ 泳動中、安全リッド上に過度な圧を加えたり、リッドの上に物を置いたりしないでください。ストリップホルダーの電極線と電極板との間にアーク（火花）を生じさせる原因となり、装置に損害を与えます。
- ➡ 電源コードのプラグは正しく差してください。
- ➡ 通常、使用しない時は電源コードを抜いてください。
- ➡ 装置の正面、背面、底面にある放熱孔を塞がないでください。
- ➡ Ettan IPGphor II は水平な台の上に設置してください。
- ➡ 装置本体に液体をかけないでください。
- ➡ 電極板を傷つけないでください。

IPGストリップ、ストリップホルダー、試薬

- ➡ ストリップホルダーは落としたり、倒したりすると破損する可能性がありますので取扱いには注意してください。
- ➡ IPGストリップ、器具を取り扱う時は必ず手袋を着用し、二次元電気泳動パターン上のサンプル由来でないタンパク質スポットの混入を最低限に抑えます。
- ➡ 洗浄には製品添付の専用クリーナーを使用してください。IPGストリップ、サンプルに接触するストリップホルダー以外の器具は全てガラス製品用中性洗剤で洗浄後、超純水でよくすすいでください。
- ➡ IPGストリップの長さに応じた膨潤液量をご使用ください。
- ➡ 尿素を含んだ溶液は40℃以上に温めると、イソシアン酸塩のような尿素副産物が生じ、サンプル中のタンパク質をカルバミル化して、等電点を変えてしまいますので注意してください。
- ➡ 全ての試薬は高純度のものをご使用ください。水は超純水をご使用ください。

1.4. 仕様

この仕様は以下の場合において有効です

- 研究室で使用した場合
- 操作マニュアルに記載された変更を除き、GEヘルスケア バイオサイエンスから発送された時の状態で使用した場合

電極板	金メッキ銅板
設置ストリップホルダー数	Strip Holderの場合、12本まで Cup Loading Strip Holderの場合、9本まで Cup Loading Manifoldの場合、12本まで
プラットフォーム設定可能温度範囲	15～30℃
設定温度最小桁	1℃

ストリップホルダー

材質	ベース：酸化アルミニウムセラミック カバー：アクリル
対応サイズ	Strip holderの場合：各IPGストリップ長（7、11、13、18、24 cm）ごとに異なるホルダーを使用 Cup Loading Strip Holder / Manifoldの場合：すべての長さに対応可能。

ユーザーインターフェイス

コントロールパネル	7キー メンブレンキーパッド 液晶ディスプレイ（LCD）；4段、24文字／段
設定可能パラメーター	膨潤時間、プラットフォーム温度、IPGストリップ 1本あたりの電流上限値、各ステップ電圧値、各ステップ電圧変化パターン、各ステップ時間
プロトコール数	10（1プロトコールにつき9ステップまで入力可能）
シリアルポート	RS232C、1,200または9,600 baud、8 data bits ストップビット1、パリティーなし、フロー制御なし

操作環境

温度	15～35℃
相対湿度*	0～70%

電源条件

電圧	115/230 V
周波数	50/60 Hz
消費電力	100 W

出力

電圧	0～8,000 V、解像度：10 V
電流	0～1.5 mA、解像度：1 µA
電力	最大12 W

外形

サイズ	250×460×140（W×D×H）mm
重量	6.8 kg

安全性

安全機能	安全リッド開放時、電圧自動遮断
国際安全規格	CE、UL、CSA

＊ 相対湿度が高いと、プラットフォーム表面に結露が生じる可能性があります。プラットフォーム温度20℃、相対湿度70%未満で泳動した場合には、通常結露は見られません。プラットフォーム温度が20℃以上であれば比較的高い相対湿度にも結露せずに対応します。プラットフォーム表面への結露を誘因する動作環境はさまざまです。結露が生じた場合、温度や相対湿度を抑えるための空調設備のある部屋へ本体を設置してください。

2 装置のセットアップ

Note：
旧モデルEttan IPGphorとは以下の点が異なります。

- Strip Holder、Cup Loading Strip Holderを用いて泳動を行う場合は、付属のLid Adapterを使用してください。詳細はP.20をご参照ください。
- 付属のEttan IPGphor II Control Softwareを用いてパソコンと接続することで、泳動プロトコールやデータの保存、パソコンからのEttan IPGphor II 本体制御を行うことができます。詳細はp.10をご参照ください。

2.1. 装置の設置

1. 重要：冷却装置を確実に作動させるために、装置の前面、背面、底面にある放熱孔は塞がないでください。

2. ストリップホルダーの外側に溶液が流れ出さないように、水平のとれた場所へ設置してください。必要に応じて、本体の脚の高さを調整してバランスをそろえます。

2.2. 電源について

製品には2本の電源コードがついています。115 V以上の電力出力用の"North American"スタイル（NEMA 5-15-P）三叉プラグをご使用ください。

電源コードのプラグは、一方は装置の背面パネルの取り口に、もう片方はコンセントにしっかりと差し込んでください。

2.3. オプション：プリンターまたはコンピューターと接続するためのシリアルポート

プリンターまたはコンピューターと接続するシリアルポート（RS232C）は装置の背面にあります。必要なケーブルのタイプ（ストレートシリアルかナルモデム）をご確認ください。プリンターまたはコンピューターがピン2でデータを受信、ピン3で送信する形式であれば、ストレートシリアルケーブルが必要です。ほかの形式をとっているのであれば、ナルモデムケーブルが必要です。ピンナンバーの割り当てと装置のセットアップ項目は次の通りです。

Ettan IPGphor II RS232Cシグナルとピンナンバーの割り当て：

ピン2	送信
ピン3	受信
ピン5	グランド
他のピン	接続なし

Ettan IPGphor II が装置でデータを受信するのに必要なセッティング：

Baud rate	1200または9600
Data bits	8
Stop bit	1
Start bit	1
Parity	None
Flow control	None

Baud rateを設定する際は↑↓キーを同時に押します。↑↓キーでBaud rateを選択し、→キーでメインメニューに戻ります。

```
Serial Port Setup
Baud  Rate : 1200
Set  Up  or  Dn      Exit→
```

3 装置の取り扱い

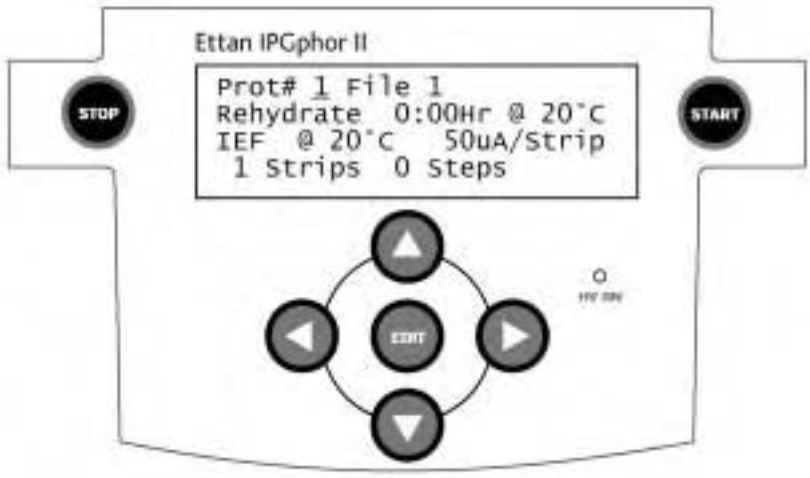
3.1. 電源を入れる

本体背面右側にある電源スイッチを入れます。スイッチをいれると自己診断プログラムがおよそ10秒間行われます。その状況は画面に表示されます。装置になにか問題があった場合、診断プログラムは停止し、画面上に問題点をメッセージとして表示します。STARTキーを押すと次の診断に移ります。問題があった場合、そのメッセージを記録し、GEヘルスケア バイオサイエンスへご連絡ください。

自己診断プログラムが問題なく終了すると、装置の準備が完了したことが下のようにメイン画面に表示されます。

Ettan IPGphor II **コントロールパネル**

メイン画面の初期設定は"Protocol #1, File 1."です。カーソルの初期位置はプロトコールナンバー"1"の下です。↑↓キーを押して目的のプロトコールナンバーを選び、表示します。



STOPキー：プロトコールを一時停止します。STOPキーを2度押すと、実行中のプロトコールを強制終了し、3度押すと他のプロトコールを始めるためにリセットされます。

↑：選択した枠の値や数値をあげます。
↓：選択した枠の値や数値を下げます。

STARTキー：選択したプロトコールを開始します。

←：カーソルを左に動かします。カーソルがスクリーンの上段左端にある状態で←キーを押すとカーソルは下段左端、または最上段の左端に移ります。

EDIT：プロトコールステップをプログラム（入力）できる"edit mode"へ切り替えます（セクション3.2ご参照ください）。edit mode表示の状態でEDITキーを押すとプロトコールを入力する前の画面（メイン画面）に戻ります。泳動中にこのキーを押すと、残り時間（概算値）が表示されます。

→：カーソルを右に動かします。カーソルがスクリーンの下段右端にある状態で→キーを押すとカーソルは上段左端、または最上段の左端に移ります。

3.2. プロトコールの作成と入力

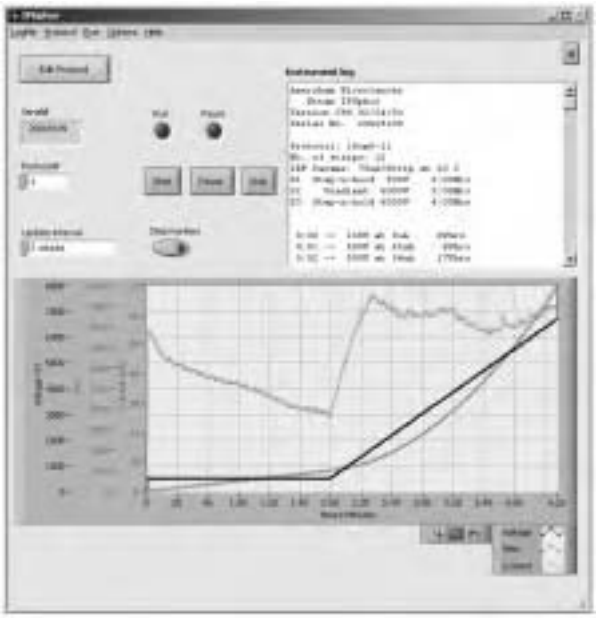
3.2.1. プロトコールパラメーター

Ettan IPGphor II は10個のプロトコールまで保存できます。設定可能なパラメーターは、膨潤の時間と温度、各泳動ステップにおけるそれぞれの時間、温度、泳動パラメーター です。 泳動パラメーターには電流上限値、電圧、電圧変化パターンがあります。また、1プロトコールには、最大9ステップまで入力できます。

推奨しているサンプルの取扱い方法、プロトコールのガイドラインについては2-D Electrophoresis, Principles and Methodsをご参照ください。プロトコールワークシート（32ページ）はプロトコールを組み立てたり、記録する際にご使用ください。各パラメーターの設定範囲は下記の通りです。

パラメーター	設定可能範囲	通常使用値
ステップ	1〜9	
各ステップの時間（hrs）	膨潤：0〜99:59	10:00〜14:00
	泳動：0〜99:59	2:00〜10:00
電圧（V）	0〜8,000	100〜8,000
電流上限値	IPGストリップ 12本同時に泳動した場合 1500 µA	IPGストリップ 1本あたり 50 µA
プラットフォーム温度（℃）	膨潤：15〜30	20
	泳動：15〜30	20

パラメーターの設定：
各画面には編集可能な1つ以上のパラメーター情報が表示されます。各枠にはそれぞれ数字や文字が入力できます。数値のなかには他の数値と連動しているものもあります。↑↓キーを用いて増減させるか、直接数値を入力します。上記の設定可能範囲内であればどのような値も使用できます。



Ettan IPGphor IIはボルトアワー（Vhr）または時間（Hrs）でプログラムを設定することが可能です。

シリアルケーブルでシリアルポートとWindows版PCをつなぎ、Ettan IPGphor II Control Software を利用することでPCによる本体の制御およびデータ取込みが可能になります。

このソフトウェアのもつ機能は、プロトコールの編集とPC上で編集されたプロトコールのIPGphor II本体への取込みや 修正、IEF泳動の開始・完了・一時停止、リアルタイムでのlogファイルの取込み、設定した時間（1〜30分間）に対する電圧・電流・ボルトアワーの変動の図示、データの印刷と保存（テキストもしくはスプレッドシートファイル）です。

※ 詳しい設定方法はソフトウェア付属のマニュアルをご参照ください。

3.2.2. **プロトコールパラメーターの入力**

全てのプロトコールパラメーターはeditモードで設定します。
EDITキーを押し、editモードへ切り替えます。
各プロトコールのeditモードにおける4つの設定画面は以下の通りです。

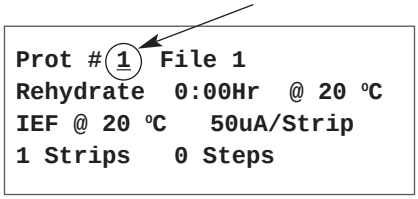
画面1	プロトコールナンバーと名称、 膨潤時間と温度、 IEF泳動条件（泳動温度とIPGストリップ1本あたりの電流上限値)、 ストリップ数、選択したプロトコールあたりのステップ数
画面2～4	各ステップ（9ステップまで）における設定可能泳動条件（電圧変化パターン、 電圧、泳動時間）

この項ではプログラミング、入力、または全てのパラメーター値の確認について説明します。

画面1
膨潤／IEF **パラメーター**

1. メイン画面からプロトコールプログラムを作成、もしくは変更するプロトコールを選びます。

   ← →キーを用いてカーソルをプロトコールナンバー枠の下に移します。↑↓キーを用いて希望のプロトコールナンバーを選択します。

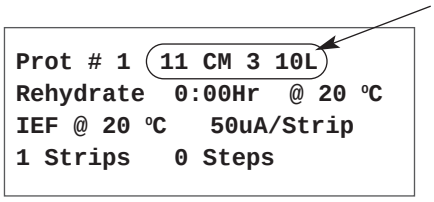


   →キーを用いてプロトコール名のところにカーソルを移動し、↑↓キーを用いて入力したい文字を選択します。プロトコール名の編集をしない場合には、←キーを用いて次の行にカーソルを進めます。

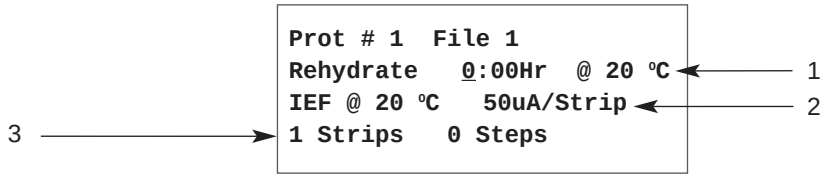
   文字を入力する場合には、←→キーを用いてカーソルを移動し、↑↓キーを用いて入力したい文字を選択します。登録されている文字は37種類（アルファベット全26文字、スペース、0～9までの数字）あります。入力したい文字が表示されたら、カーソルを次の文字に移動します。

   プロトコール名には16文字まで入力できます。オリジナルの"File #"という表示には6文字が使用されています。実験条件等がわかりやすい名称"11 CM 310L"（全11文字）に変更するには、上記の文字入力の要領で37種類の中から必要な文字を選択します。

例

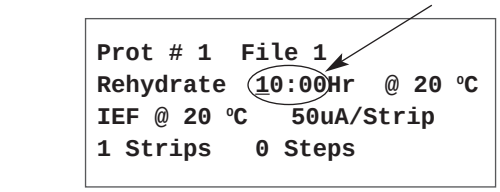


2. 必要に応じて、膨潤時間と温度(1)、泳動時の温度と、ストリップ1本あたりの電流値（μA/strip）(2)、ストリップ本数(3)を設定します。



編集できない文字の下にはカーソルは移動しません。カーソルをの位置を動かしたあと↑↓キーで値を設定します。

膨潤時間を調節するためには← →キーを用いて数値を入力したい位置（“ 0:00 ”）までカーソルを動かします。値の設定は↑↓キーで行います。



時間は10分刻みで0～99:59の範囲で設定できます。IPGストリップの膨潤時間は最低10時間必要です。膨潤時間を都合のよい時間に合わせて入力し、膨潤後自動的に泳動を始めるようにプログラムを設定することができます。すでに膨潤したIPGストリップを泳動する場合には膨潤時間は0:00 Hrにセットします。

Note:

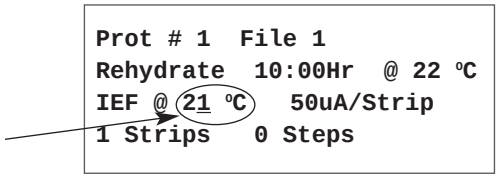
実際のプラットフォーム温度を18℃未満または25℃以上にするには周囲の温度環境を調節する必要があります。

空気中の水分が原因でプラットフォーム上に結露が生じることがあります。この場合には、室内の設定温度を常温より7℃下げてください。

膨潤温度を調節するためには、← →キーを用いてカーソルの位置を動かし、↑↓キーで15～30℃の範囲内で値を設定します。初期設定値は20℃です。

画面1の3段目では全泳動ステップ中のプラットフォーム温度と電流上限値を設定します。

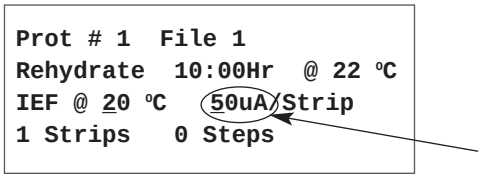
IEF温度の初期設定値は20℃です。温度を調節するためには← →キーを用いてカーソルの位置を温度枠に動かし、↑↓キーで15～30℃の範囲内で値を設定します。



電流上限値の初期設定値は50 µA/stripです。これはIPGストリップもしくは装置の損傷、加熱を防ぐために推奨している最大値です。50 µA/stripを超える設定はおすすめできません。

電流上限値を設定するためには← →キーを用いてカーソルの位置を“ µA ”枠の入力可能な3桁の内の1つに動かし、↑↓キーで0～200 µA/stripの範囲内で値を設定します。

Note：総電流値（0～200 µA/strip×strip本数）は1,500 µAまでです。



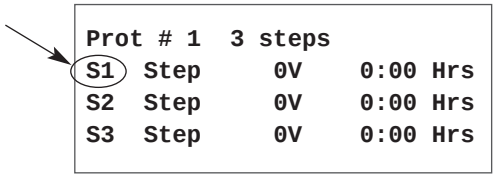
画面1の4段目では、ストリップ数を設定します。矢印キーを用いて泳動するストリップの本数を入力します。

ステップ数はプログラム済みのステップ数が反映されます。
次の入力画面へ進むには、EDITキーを押します。

画面2～4
IEFプロトコールステップ

3. editモードの2番目の画面（画面2）では電圧変化パターン、電圧、泳動時間を設定します。1つの画面で3ステップまで同時に設定できます（最大9ステップ；計3画面）。プログラム済みのステップ数がプロトコールナンバーの横に表示されます。

各ステップは“ S ”とステップナンバーで表示されます。

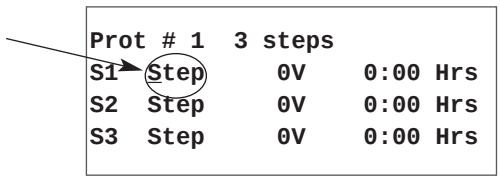


← →キーを用いてカーソルの位置をステップナンバーの下へ動すことができます。次のステップへ進むには↑キーを押し、前のステップへ戻るには↓キーを押します。

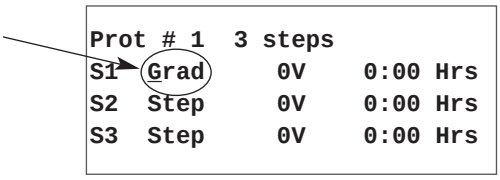
電圧変化パターンは2種類あります。
ステップの泳動時間中、セットした電圧値を一定に保つStep-n-Hold（"Step"と表示されます)、前のステップで設定した値から現ステップで設定した値に（現ステップの泳動時間内で直線的に）電圧上限値を増やしていく（または減らしていく）Gradientです（"Grad" と表示されます)。
最初のステップを"Grad"で開始すると、電圧値は0から設定値まで直線的に増えていきます。

初期設定は各ステップ"Step"です。"Grad"に変更する場合は← →キーを用いてカーソルを"Step"の下に動かし、↑↓キーで選択します。

各ステップの初期設定電圧値は0です。プロトコール電圧値を各ステップごとに入力します。必要なステップが9より少ない場合、最後のステップ以降の電圧値は全て0 Vに設定してください。

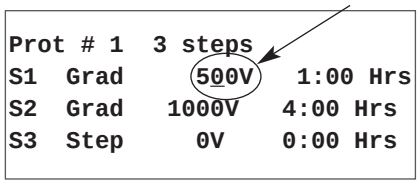


↑or↓を押す



IEF電圧は10 V刻みで0～8,000 Vの範囲で設定できます。

電圧値枠の最初の3桁は個々にセットできます。まず← →キーを用いてカーソルを入力したい桁に合わせ、↑↓キーで値を設定します。



ステップの泳動時間（0～99:59 Hrs）もしくはボルトアワー（volt-hours;0～99999 Vhr）は各ステップごとに入力できます。

単位の選択は、カーソルを"Hrs"の下に動かし、↑↓キーでHrsかVhrに設定します。

値の設定は、← →キーを用いてカーソルを入力したい桁に合わせ、↑↓キーで値を設定します。

各ステップの初期設定時間（Hrs）は0:00です。使用しないステップは全て0:00にしてください。ボルトアワー（Vhr）の値は左のNoteで説明しているように計算されますが、時間（Hrs）と同様に設定することもできます。

Note:

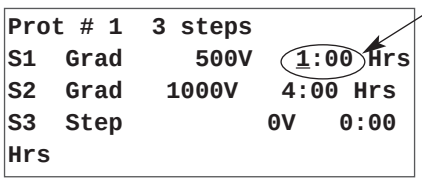
"Hrs"を設定した後"Vhr"に変更すると、"Vhr"の値は選択した電圧変化パターンに合わせて自動的に計算されます。

"Step"の場合：Vhrは時間と電圧の積算値です。

"Gradient"の場合：Vhrは時間と現ステップとその前のステップの電圧上限値を平均した値の積算値です。

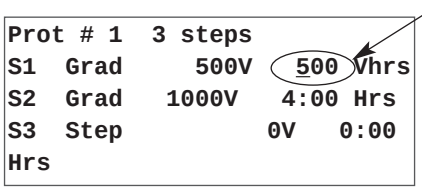
"Hrs"で設定したステップ（(1)の表示にした場合）の泳動は時間で制御され、"Vhr"で設定したステップ（(2)の表示にした場合）はボルトアワーで制御されます。

(1)



もしくは

(2)



プログラム例

簡単な3-ステッププロトコールとその電圧値の推移

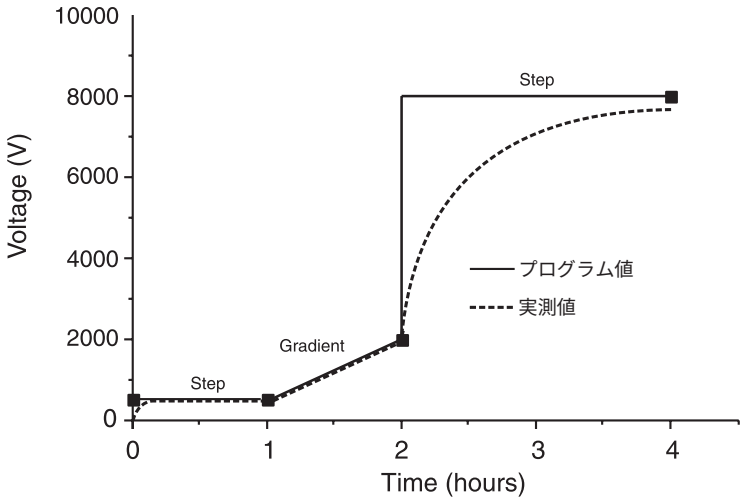
2つの電圧変化パターンについて説明するために、簡単な例としてプログラムしたステップとその電圧値の推移を示します。

IEFの推奨プロトコールについては2-D Electrophoresis, Principles and Methodsをご参照ください。

```
Prot # 1  3 steps
S1    Step   500V   1:00 Hrs
S2    Grad   2000V  4:00  Hrs
S3    Step   8000V  2:00  Hrs
```

電圧値の推移

設定した電圧は電圧上限値です。電流が制限されている条件下では最大電圧値に達するのに時間がかかったり、一定の電力条件下では達しないこともあります。



Ettan IPGphor IIプロトコールの最後に低電圧ステップを設定することも可能ですが、この場合、バンドの鮮明さは減退します。

4. プロトコールを確認するには各ステップ間をスクロールします。

   ← →キーを用いてカーソルをステップナンバー枠に合わせ、↑↓キーでステップ間をスクロールします。

   ← →キーを用いてカーソルの位置を決め、↑↓キーで値を調整することができます。マニュアルの終わりについているプロトコールワークシートをご利用ください。

   使用しない全てのステップの電圧値が0であること、Hrs枠の値が0:00であることを確認します。

5. 画面2〜4でEDITキーを押すと変更点が保存され、editモードからはじめのプロトコール画面に切り替わります。

3.3. IPGストリップの膨潤とサンプル添加 —Strip Holderの場合

IPGストリップは泳動前に膨潤を行います。膨潤したIPGストリップは幅3 mm、厚さ約0.5 mmです。膨潤は以下の手順で行います。

1. Strip Holderを準備します。選択したIPGストリップの長さ（7, 11, 13, 18, 24 cm）に合ったStrip Holderを選びます。Strip Holderを傷つけないように製品付属の洗浄剤を用いて洗い、残っているタンパク質を除去した後、超純水で十分すすいでください。Strip Holderを、綿棒や繊維の残らないティッシュで拭くか、風乾します。Strip Holderは使用前に完全に乾燥させてください。

2. 膨潤液を準備します。2-D Electrophoresis, Principles and Methodsでは一般的に使われる組成を紹介しています。IPGストリップ 1本あたりに必要な膨潤液量は下表の通りです。

IPG ストリップ長 (cm)	IPGストリップ 1本あたりのバッファー量 (µl,サンプルを混合する場合はサンプルを含む)
7	125
11	200
13	250
18	340
24	450

3. 各Strip Holderに、膨潤液を必要量入れます。膨潤液は、溝の中央にゆっくりと入れます。大きい気泡は取り除いてください。

   Note：確実にサンプルを吸収させるため、膨潤液は推奨量を守ってください。

4. IPGストリップの保護フィルムをはがします。ゲル面を下に向けて、IPGストリップの酸性側（“＋”の表示がある側、あるいはポイントエンド側）をStrip Holderのポイントエンド側（陽極側）に向けます。まずIPGストリップの酸性側（＋側）を膨潤液上におろします。IPGストリップ全体にムラなく膨潤液が行き渡るように、ゆっくりとIPGストリップを上下させます。膨潤液がうまく行き渡らない場合は、Strip Holderを少し傾けるなどして、ストリップ全体に膨潤液が行き渡るようにしてください。

   最後にIPGストリップの両端がStrip Holder電極線に接触するように調整しながら塩基性側を溝におとします。膨潤液でIPGストリップが着色されるのが確認できます。IPGストリップの下に気泡が入らないように注意してください。

5. 水分の蒸発、尿素の析出を最小限にするため、Immobiline DryStrip Cover Fluid を添加します。

   Immobiline DryStrip Cover Fluidをピペットにとり、Strip Holderの一方の端からIPGストリップの半分が覆われるまで滴下します。次に、Strip Holderのもう一方の端からカバー液をIPGストリップ全体が覆われるまで滴下します。

6. Strip Holderにカバーをします。カバーの裏側にあるプレッシャーブロックにより、膨潤後のIPGストリップと電極が確実に接触します。

7. 膨潤時は、Strip Holderを水平な実験台上かEttan IPGphor IIのプラットフォーム上に設置します。膨潤には最低10時間が必要です。膨潤時間はEttan IPGphor IIプロトコールの最初のステップで設定することができます。Ettan IPGphor IIのプラットフォームはペルティエ素子による温度制御が可能なため、膨潤中の温度管理が重要な場合や、低電圧下で膨潤を行う場合に有用です。

オプション：膨潤時に電圧を加える

必要に応じて、低電圧を掛けながらサンプルを膨潤時にIPGストリップに吸収させることもできます。この方法により高分子タンパク質の取込みが改善されます。電圧を加えて膨潤を行う場合には膨潤時間を0:00にセットし、ステップ1を低電圧（30〜100 V）、時間を10〜12 hにプログラムします。その後、泳動のステップを加えます。

オプション：泳動前に電極ろ紙を置く

長時間の泳動を行う場合は、水がIPGストリップの一方の端に向かって移動し、そのためもう一方の端は乾燥してきます。この現象は泳動の直前に、IPGストリップとStrip Holderの電極線との間に電極ろ紙をおくことで最小限に抑えることができます。また、電極ろ紙はIPGストリップ端にとどまっている荷電性物質を吸収することによって、荷電性物質の分離に対する影響を抑える役割を果たします。

1. 等電点電極ろ紙から3 mm幅の電極ろ紙を2枚切り取ります。ガラス板のような平らできれいな場所へ置き、超純水に浸します。余分な水を十分にペーパータオルで吸い取ります。

   Note：電極ろ紙は濡らすのではなく、湿らせます。

2. ピンセットを使って膨潤済みのIPGストリップの端を持ち上げます。電極ろ紙を電極の上に置き、IPGストリップを元の位置に戻します。もう一方の端も同様に電極ろ紙を置きます。

オプション：膨潤後のサンプル添加

Note:

IPGストリップのサポートフィルムは水などを通しません。ストリップのフィルム側にサンプルを添加しないよう、注意してください。

膨潤液にサンプルを入れない場合、泳動直前に添加します。

1. 使用した膨潤液の組成に近い溶液に溶かしたサンプルを用意します。

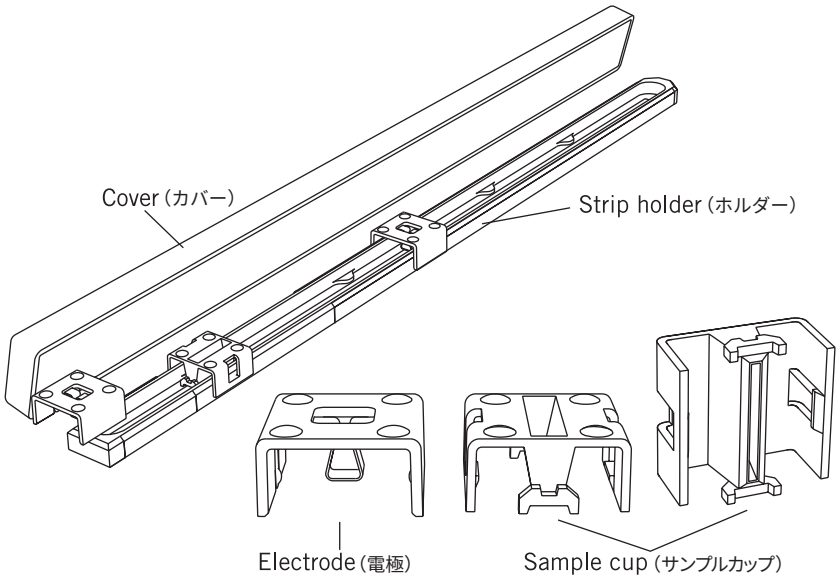
2. サンプルをピペットにとり、ストリップホルダーの両端側にあるウェルの一方もしくは両方に添加します。サンプルはカバー液の下へ添加します。

   1サイドウェルにつき7.5 µlまでサンプルが添加できます（両ウェル、両サイドを使用した場合30 µlまで添加できます）。

3.4. IPGストリップの膨潤とサンプル添加 —Cup Loading Strip Holder の場合

Cup Loading Strip Holderを用いる場合、膨潤済みのゲルにサンプルを添加し、泳動を行います。まずImmobiline DryStrip Reswelling Trayを用いてIPGストリップを膨潤し、Cup Loading Strip Holderに移します。Cup Loading Strip Holderでは7〜24 cmのIPGストリップが使用できます。サンプルは任意の位置にサンプルカップを用いて添加します。カップによるサンプル添加は特に塩基性IPGストリップ（pH 6-9、6-11）における分離の改善に効果的であるとされています。

Cup Loading Strip Holderの使用方法については、製品に添付されている説明書をご参照ください。

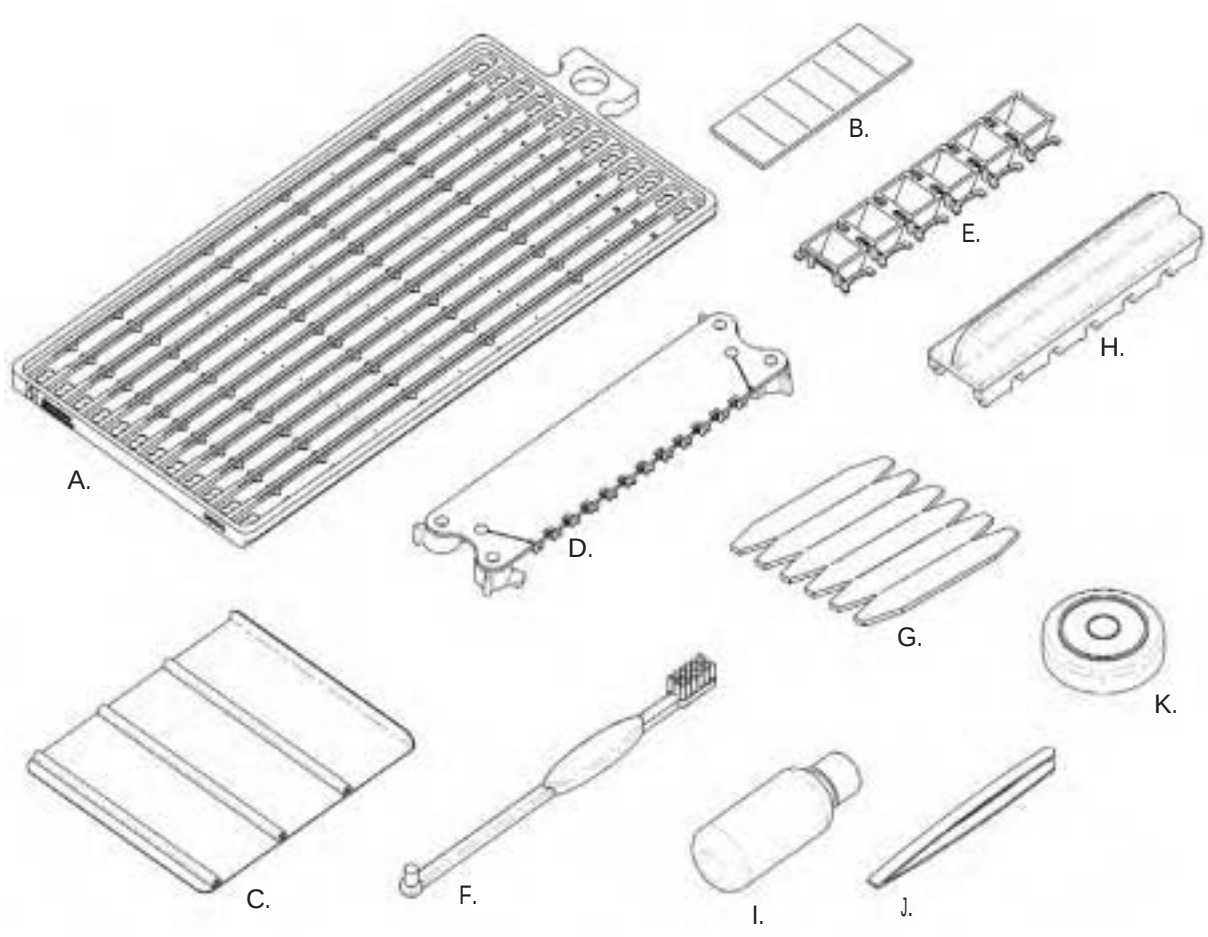


Cup Loading Strip Holderのコンポーネント

3.5. IPGストリップの膨潤とサンプル添加 —Cup Loading Manifoldの場合

Cup Loading Manifoldは長さ7～24 cmのIPGストリップを用いた泳動が可能です。Immobiline DryStrip Reswelling Trayを用いてIPG ストリップを膨潤後、Manifoldに移してサンプル添加と泳動を行います。設置はゲル側を上に向けて行います。任意の位置にサンプルカップをセットしてサンプルを添加できます。サンプルカップによるサンプル添加は特に塩基性IPGストリップ（pH 6-9、6-11）における分離の改善に効果的であるとされています。一次元目の泳動時に多量の水分の移動（電気浸透）が起こる場合（例えば1 mg以上のタンパク質を添加した場合）には、ゲル面を上向きにして泳動する方法で分離が改善されることがあります。このManifoldは陽極側、陰極側のいずれからでもサンプル添加を行えます。

Cup Loading Manifoldのコンポーネント



A．Manifold ceramic tray（マニホールドセラミックトレイ）
B．Pre-cut electrode wicks（電極ろ紙）
C．Lid adapter（安全リッドアダプター）
D．Electrode（電極）
E．Sample cups（サンプルカップ）
F．Cleaning brush（洗浄用ブラシ）
G．Pre-cut paper bridges（ペーパーフリッジ）
H．Cup positioning tool（カップポジショニングツール）
I．Cleaning solution（ストリップホルダー洗浄液）
J．Forceps（ピンセット）
K．Spirit level（水準器）

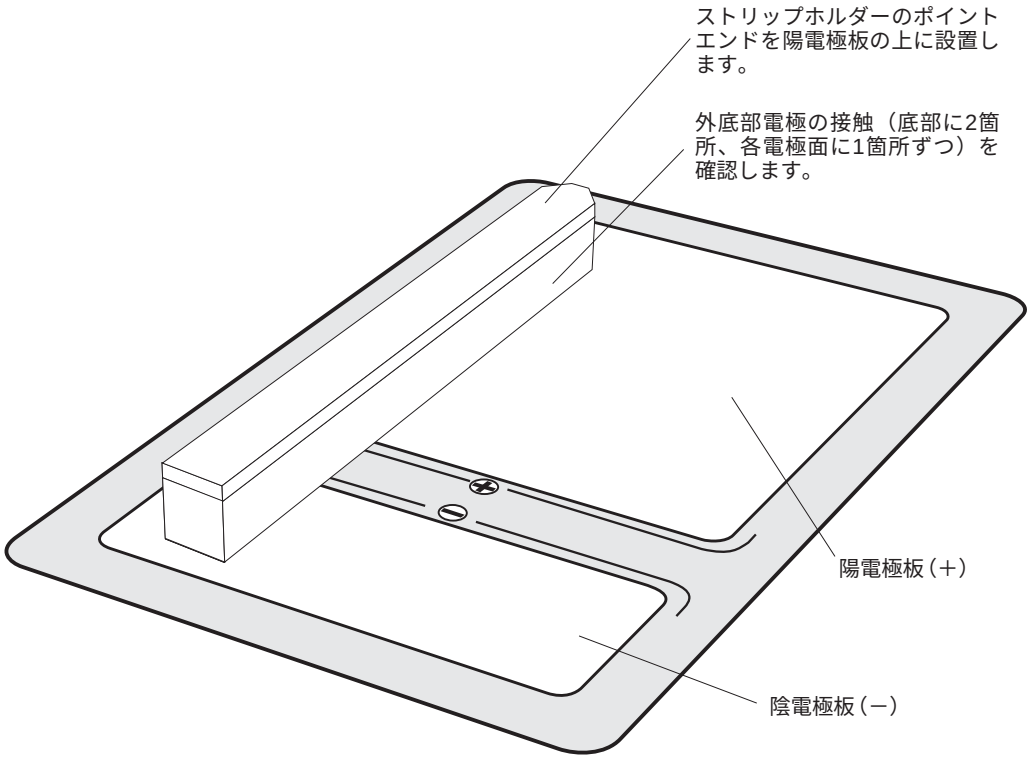
3.6. 泳動（プロトコールの開始）

3.6.1. 泳動準備

1. ストリップホルダーを設置します。Ettan IPGphor II プラットフォームには2つの電極面があります。大きい面は陽電極板で小さい面は陰電極板です。

   プラットフォーム上でのストリップホルダーの位置を下図に示します。ストリップホルダーのポイントエンドが陽電極側（装置の背面側）でフラットエンドが陰電極側です。プラットフォームのサイドにあるガイドマークは各ストリップホルダー （7, 11, 13, 18, 24 cm）を置く位置を示します。

   ストリップホルダーの両端外底部の電極が電極板に接触しているか確認します。



   Strip Holder、Cup Lading Strip Holderを使用する場合には、本体付属のLid adapterを使用します。Lid adapterのpad がStrip Holderの上面にあたるようにして－極側の折れ込みがStrip Holderの端より外側になるように設置します。

2. 安全リッドを閉めます。安全リッドの内側にある3本のプレッシャーパッドのうち少なくとも2本が、電極と電極板の接触を確実にするために各ストリップホルダーを軽く押さえていることを確認します。

3.6.2. 等電点電気泳動の開始

1. ←→キーを用いてカーソルをプロトコール番号枠に移し、↑↓キーを用いてプロトコール番号を選択します。

```
Prot# 1 MY PROTOCOL
Rehydrate 10:00Hr @ 20℃
IEF @ 20℃ 50 µA/Strip
12 Strips 0 Steps
```

2. ←→キーを用いてカーソルをストリップ数の入力枠へ移します。↑↓キーを用いて泳動するストリップ数を入力します（1〜12本）。STARTキーを押します。

   ストリップ数の確認画面が表示されます。変更がある場合は、ここで入力しなおします。STARTキーを押します。

```
Number of strips : 12
Press START to continue
```

重要：

泳動をしている間は、
- 安全リッドに過度の圧力をかけたり、不均一な重力をかけることは避けてください。
- 安全リッドに物を置かないでください。

安全リッドがしっかり閉まっていない場合、必要な操作が次のようなメッセージで表示されます。

```
Lid open step 1
Close lid to contiune
```

安全リッドをしっかりと閉め、再度STARTキーを押します。

最初の画面ではプロトコールとステップ数、総泳動時間（膨潤時間を除く）が表示されます。

注意：

安全リッドへの圧力はストリップホルダー電極と電極板の間でアーク（火花）を生じさせる原因となり、装置にダメージを与える恐れがあります。

```
Starting protocol #1
3 steps 4:00 Hr
```

膨潤時間がプログラムされている場合、膨潤経過時間と実際のプラットフォーム温度が表示されます。

```
Running Prot# 1
Rehydration for 10:00 Hr
0:01 Hr Elapsed
Rehydrate at 20℃
```

プロトコールが開始されると、各ステップは自動的にすすみ、各ステップにおける装置のステータスが画面に表示されます。

プロトコール実行中にプラットフォーム温度と残り時間を変更したい場合、以下の方法で操作します。

膨潤時間を変更するには、EDITキーを押して残り時間を表示します。

```
Running Prot# 1
Rehydrate 10:00 Hr @ 20℃
IEF @ 20℃ 50 µA/Strip
12 Strips  3 steps
```

画面の一行目はプロトコールが実行中であることを示します。EDITキーを再度押すと、ステップ設定画面に切り替わります。EDITキーを再度押すと実行画面が表示されます。プロトコールの実行中に加えられた変更は、現在実行中のプロトコールのみに適応され、保存されたプロトコールには反映されません。

↑↓キーを用いてカーソルを、変更したい数字枠へ移します。このステップを終了させるには、時間の枠に“0（ゼロ）”を入力します。数秒後に、元の画面に戻ります。温度はEDITキーを押さずにそのまま変更できます。←→キーでカーソルを温度枠に移し、↑↓キーで数値を入力します。装置の設置環境にもよりますが、セットした温度に到達するのに30分ほどかかることもあります。

膨潤ステップの終了後、等電点電気泳動が開始されます。HV ONランプが点灯し、ステータス画面には現在実行中のステップと設定したパラメータが表示されます。

```
Running Prot# 1 @ 20℃
Step 1 of 3         Vhrs
step        Vhrs Elapsed
 500V   40 µA/Strip 0.0W
```

実際のプラットフォーム温度が表示されます。

Note:

表示された電力は全IPGストリップの総電力値です。0.5Wより低い場合、0とみなされるために0 Wと表示されます。ストリップ1本あたり0.4W以上の電力値である時は泳動を止め、設定電力値（V）または電流値（µA）を下げてください。

現在の電圧値（V）、IPGストリップ1本あたりの平均電流値（µA）、現在の総電力値（W）が表示されます。電流がパラメータを制御している時は“µA”の“A”が点滅します。

泳動中のボルトアワーは、現ステップにおけるボルトアワーの合計（VhS）、または泳動が始まってからのボルトアワーの累計（VhT）、現ステップにおける経過時間（Hrs）として表示されます。VhTとVhS、Hrsを切り替えたい場合、←→キーを用いてカーソルをHrs/Vhrs枠に移し、↑↓キーを用いてVhT、VhSまたはHrsを選択します。

残り時間（Hrs、VhsまたはVhT）を表示させるには、カーソルをElapsedに移し、↑↓キーを用いてRemain枠を選択します。

Note:

“Gradient”のステップで電圧を変更した場合、そのステップの残りは泳動時間中セットした電圧値を一定に保つ“Step”に変更されます。

現ステップを制御している温度、電圧または電流の変更はこの画面上で行うことができます。

EDITキーを押すと、ステップパラメータ画面を表示させることができます。EDITキーを再度押すと実行画面に戻ります。S1枠で↑キーを押すと、膨潤／IEF画面が表示されます。

```
Running Port#
S1 Grad   500V  1:00 Hrs
S2 Grad  2000V  1:00 Hrs
S3 Step  8000V  2:00 Hrs
```

Note：
ストリップから色素の離脱は泳動終了の指標にはなりません。

泳動中、ブロモフェノールブルーなどのトラッキング色素はストリップ中を酸性側に向かって移動し、最終的にIPGストリップを離れます。これは一般的に泳動終了のかなり前に起こります。

トラッキング色素が移動しない場合、電流がストリップに流れていないことを示します。ストリップホルダー電極が電極版に接触しているか確認してください。その他の解決策については**5. トラブルシューティング**をご参照ください。

プロトコールが終了するとブザーが鳴り、次の画面が表示されます。

```
Run ended at
8000V  12000 Vhrs    Total
50µA   8:00  Hr      Total
Press Stop to reset
```

Note：
実験の再現性を高めるためには、これらの値を記録しておくことが重要です。

最終泳動値が表示されます。STOPキーを押して装置をリセットします。

3.6.3. プロトコールの一時停止と終了

実行中のプロトコールを一時停止または終了するにはSTOPキーを押します。

```
Paused in step 1
Press START to continue
```

プロトコールを続行するには、STARTキーを押します。プロトコールをキャンセルするには、STOPキーを再度押します。全てのプロトコールが終了した場合と同様の画面 が表示されます。

泳動状態の印刷例

GE Healthcare
Ettan IPGphor
Version C 06/25/02
Serial No. 20076543
Protocol:
No. of strips: 1
IEF Params: 50µA/strip at 20 C
S1 Step-n-hold 500V 3:00Hrs

0:00	50V at 1µA	0Vrhs
0:05	500V at 39 µA	37 Vhrs
0:10	500V at 15 µA	78 Vhrs
0:15	500V at 10 µA	120 Vhrs
0:20	500V at 10 µA	162 Vhrs
0:25	500V at 9 µA	204 Vhrs
0:26	***End of run ***	

3.6.4. 泳動状態の印刷

RS232Cシリアルポートから泳動中5分毎に装置のステータスを記録するようプログラムされています。サーマルプリンターを接続した場合、左の印刷例のように印字されます。膨潤時間は記録されません。経過時間、電圧、電流、累積Vhrを記録します。また、安全リッドを開けたときや泳動完了時のように通電がたたれた場合も記録されます。

Ettan IPGphor II Control Softwareを使用して、結果を記録・グラフ化・印刷することもできます。

また、結果はテキストやスプレッドシートとしてエクスポートすることも可能です。

Note:**アークリミット機能**
Ettan IPGphor IIはアーク（火花）を繰り返し検出した場合、自動的に電圧を250 Vに下げ、電圧の上限値を毎回500 Vずつ下げていきます。この場合、画面上では電圧値の後に“ ！ ”が表示され、印刷している場合は“ ARC！Limit 7500 V ”のように印字されます。電圧はその後、新たに設定された上限値まで徐々に上昇します。STOPキーを押すと、“ アークリミット機能 ”がリセットされます。

Note:
Control Softwareは Ettan IGphor II専用です。旧機種の Ettan IPGphor（コード番号：80-6414-02）には使用できませんのでご注意ください。

4 メンテナンス

4.1. 重要事項

- ➡ ストリップホルダーおよびCup Loading Manifoldは酸化アルミニウムセラミックでできています。破損しないよう取扱いにはご注意ください。落としたり、倒すことは避けてください。洗浄の際は電極部分を曲げたり破損させたりしないようにご注意ください。
- ➡ 電極板を傷つけないでください。
- ➡ 装置は使用毎に湿らせた布やペーパータオルで拭いてください。研磨剤入りクレンザーや溶剤は決して使用しないでください。
- ➡ メンテナンスを行う場合は必ず電源を切り、電源コードを抜いてください。

4.2. クリーニング

液体試薬に触れる部品は一般的に泳動に使用される試薬には耐性があります。これ以外の試薬は事前に使用する部品の一部でその影響を確かめてください。ケトン類、強酸、炭化水素溶剤は決して使用しないでください。

使用毎にストリップホルダーおよびCup Loading Manifoldを洗浄してください：ストリップホルダー洗浄液（80-6452-78）もしくはガラス器具用中性洗剤でストリップホルダーおよびCup Loading Manifoldを洗います。アルカリ洗剤や有機溶媒の使用は避けてください。ストリップホルダーの溝を洗う際は、ホルダー内面を傷つけないために綿棒やペーパータオルなどを使用します。まず水でよく洗剤を落とした後、超純水ですすぎます。綿棒や繊維の残らないティッシュで拭くか、風乾します。

重要！

ストリップホルダーは乾熱、煮沸、オートクレーブにて滅菌が可能ですが、Cup Loading Manifoldにはこれらの滅菌法は適用できません。ご注意ください。

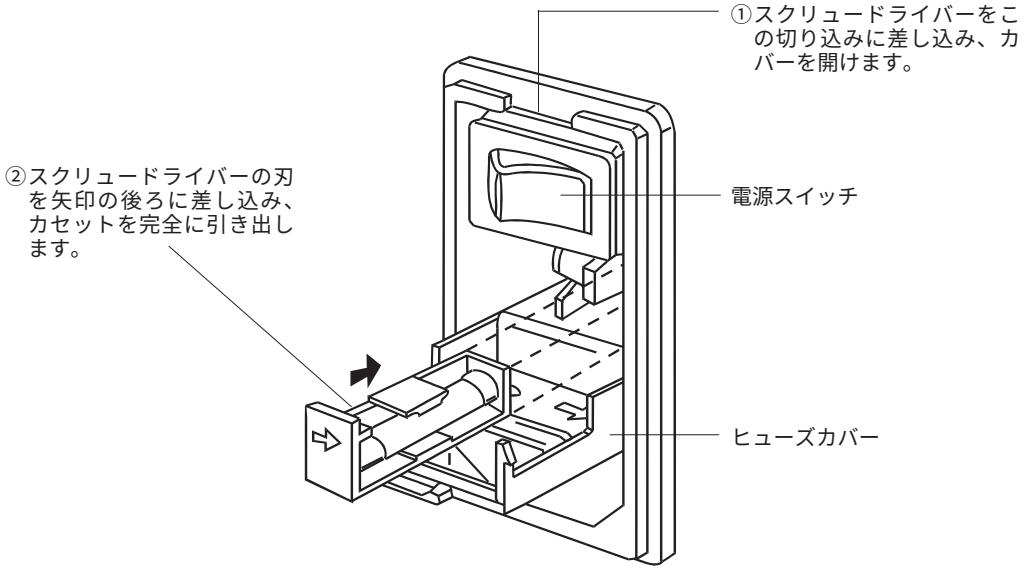
使用後には必ずプラットフォーム／電極板をラボティッシュやペーパータオルで拭きます。他の部分は湿らせた布で拭きとります。決して研磨剤入りクレンザーや溶剤を使用しないでください。

4.3. ヒューズの交換

重要：装置に過剰な負荷がかかるのを回避するため、ヒューズにより制御されるよう設計されています。ヒューズ交換の際は同タイプのヒューズをご使用ください。装置背面にある電源モジュールは同じ仕様のヒューズが2つ入っています（T 1.6A 250 V, 5×20 mm）。

1. 注意：ヒューズを交換する前に電源スイッチを切り、電源コードを抜いてください！

電源モジュールは装置背面にあります。



2. 小さいマイナスのスクリュードライバーを電源モジュール上端の切り込みに差し込み、ヒューズ部のカバーを開けます（上記図①）。スクリュードライバーを1/8回転させ、カバーを開け、ヒューズカバーを引き出してください。

3. スクリュードライバーをヒューズカセットの矢印よりも奥に差し込み、カセットの端を掴んでゆっくりとモジュールから完全に引き出します（上記図②）。

4. カセットからヒューズを取り出して状態を見ます。ヒューズが切れていたり、破損していた場合、同タイプの新しいヒューズに交換します。外見上問題がなければマルチメーターで測定してください（測定値が1 Wもしくはそれ以下の場合、交換の必要はありません）。

5. 新しいヒューズに交換後、カセットの矢印が正しいことを確認し、電源モジュールの中へ入れます（ドア部の内側にある矢印をガイドとして同じ向きに入れます）。

6. 2つめのカセットについても3～5の操作を繰り返します。

7. ヒューズ部のカバーを閉め、パタンと音がするまで電源モジュールにゆっくり押し付けます。

8. 電源コードのプラグを装置に差し込み、電源スイッチを入れます。

5 トラブルシューティング

LCDディスプレイに表示されるメッセージ

"Lid open step 1, close to continue"

▶ 安全リッドが正しく閉まっていません。
安全リッドが開いていると装置は安全機能が働き、自動的に電圧を遮断します。プロトコール実行中、安全リッドは必ず閉めてください。

edit モードで画面がフリーズしてしまう

▶ 電源スイッチを切り、装置をリセットします。

何も表示されない

▶ 電気的な部分が機能していない場合（HVランプが点灯しない、冷却ファンが回っていないなど）、電源モジュールのヒューズを調べてください。

診断プログラムが問題点を指摘した

▶ 問題点を記録し、STARTキーを押すと次の診断に移ります。問題点を解消する方法の詳細については、弊社までご連絡ください。

出力に関わる問題

電流値が非常に低いもしくは0

▶ ストリップホルダーの電極とプラットフォームの電極板との接触を確実にするため、プレッシャーパットが各ストリップホルダーを軽く押さえて安全リッドの内側にある3本のプレッシャーパッドのうち少なくとも2本が、ストリップホルダーと接触しているか確認してください。

▶ IPGストリップは通電するために均一に、十分に膨潤されていなければいけません。確実に、ストリップホルダーに適切な膨潤液量を添加し、最低10時間は膨潤してください。

▶ 2-D Electrophoresis, Principles and Methodsのトラブルシューティングの項をご参照ください。

電圧が上限値に達しない

▶ 膨潤液のイオン強度が高すぎます。両性担体の濃度を下げてください。

▶ サンプルの脱塩等を行い、塩濃度を10 mM以下にしてください。

▶ 2-D Electrophoresis, Principles and Methodsのトラブルシューティングの項をご参照ください。

ストリップに火花が散る、もしくは焦げる

▶ 電流上限値を下げてください。IPGストリップ1本あたり50 µAより高く設定しないでください。

▶ 膨潤中、Immobiline DryStrip Cover Fluidを常に満たしてIPGストリップが乾燥するのを防いでください。

▶ IPGストリップが全体的に完全に膨潤されていることを確認してください。IPGストリップは適量の膨潤液に完全に浸っている状態でなくてはなりません。IPGストリップの下にできている気泡を除去してください。

▶ サンプルを脱塩し、塩濃度を10 mM以下にしてください。膨潤液の添加物から荷電性物質を除去してください。サンプルや膨潤液に荷電した物質が多量に含まれると、電気浸透の原因になり、ストリップの中央部分が乾くことがあります。その部分は湾曲したり、焦げてしまう可能性があります。

▶ 2-D Electrophoresis, Principles and Methodsのトラブルシューティングの項をご参照ください。

6 FAQ ー 頻繁に寄せられるご質問

Q. 一次元目等電点電気泳動を行う際、泳動装置本体の他に必要なものは何ですか？

A. Immobiline DryStripの膨潤と泳動のためにStrip Holder、Cup Loading Strip HolderまたはCup Loading Manifoldが必要です（5ページ「ストリップホルダー選択ガイド」参照）。Cup Loading Strip HolderまたはCup Loading manifoldを使用の際は、Immobiline DryStrip Reswelling Trayも必要になります。その他、消耗品としてImmobiline DryStrip、IPGBuffer、泳動時にImmobiline DryStripが乾燥するのを防ぐためのImmobiline DryStripCover Fluid（17-1335-01）、Strip Holder専用のストリップホルダー洗浄液（80-6452-78）などが必要です。

Q. Immobiline DryStrip以外のゲルを使用することはできますか？

A. 使用できません。Ettan IPGphor IIはImmobiline DryStrip専用の電気泳動装置です。

Q. 推奨の泳動条件、および泳動条件の至適化の方法について教えてください。

A. 二次元電気泳動で十分な分離能を得るための条件は、サンプルによって異なります。そのため電気泳動条件は、サンプルごとに条件検討が必要です。まずは、予備実験として弊社推奨の電気泳動条件で泳動してから、電圧値、Vhr値、時間などの検討を行うことをおすすめします。弊社で推奨している泳動条件は、大腸菌可溶化サンプルを用いて至適化したものです。推奨の電気泳動条件は、Immobiline DryStripの製品添付書をご参照ください。

Q. 電圧が設定値まで上がらないため電流の設定値（電流値）を上げたいのですが電流値はどのくらいまで上げることができますか？

A. 電流値はImmobiline DryStrip 1 本あたり50 µA 以下に設定してください。Immobiline DryStrip 1 本あたりの電流値を50 µA より高く設定すると、ゲルが乾燥したり、燃えるなどトラブルの原因になります。

Q. 一次元目の泳動を終了したゲルを保存することはできますか？

A. -20 ℃以下で冷凍保存することができます。長期間冷凍保存すると、タンパク質が分解されてスポット数が減るなどの現象がおこりますので、定量的な解析を行う場合は一次元目電気泳動終了後すぐに二次元目の展開を行うことをおすすめします。保存しておいたImmobiline DryStripを二次元目に展開するときは、凍った状態のまま平衡化溶液に浸してください。

〈トラブルシューティング〉

Q. 電圧が設定した8,000 Vまで上がらない。

*A*1. 【Immobiline DryStrip 7 cmの場合】電圧値は8,000 Vまで上昇しない場合があります。約3,000〜5,000 Vの範囲内であれば、問題ありません。

*A*2. 【その他の場合】7 cmのImmobiline DryStripで電圧値が3,000 V以下、またはそれ以外のImmobiline DryStripで電圧が8,000 Vまで上昇しない場合、次のような原因が考えられます。

1）膨潤バッファー中のIPG Buffer濃度が高すぎる。

膨潤バッファー中のIPG Buffer濃度が2 %の場合、電圧が上がりにくくなる場合があります。IPG Buffer濃度を0.5 %以下にしてください。

2）サンプル中の塩濃度が高すぎる。

サンプル中の塩濃度は10 mM以下にしてください。サンプル中に荷電性物質が多く混入している場合、等電点電気泳動に影響を与える場合があります。

3）膨潤バッファー中のBPB濃度が高すぎる。

膨潤バッファー中のBPB濃度が高い場合、電圧が上がりにくくなることがあります。BPBはImmobiline DryStrip全体にうっすら色がつく程度の量で十分です。

4）試薬が古い。

尿素等の試薬は新しいものをご使用ください。試薬に不純物が混入していると、等電点電気泳動に影響を与える場合があります。特に、古い尿素を使用したり、尿素を溶かすときに30 ℃以上に加熱したりすると、尿素の分解産物により塩濃度が高くなり電圧が上昇しなくなる場合があります。

5）サンプルにイオン性界面活性剤や核酸などの荷電性物質が含まれている。

SDSなどのイオン性界面活性剤や核酸などの荷電性物質は、十分除いてください。界面活性剤には、非イオン性または両性イオン性のものを用いてください。

6）膨潤バッファーが古い。

膨潤バッファーは少量ずつに分注して凍結保存してください。凍結融解は試薬劣化の原因となります。弊社では、2.5 mlずつに分注し、1ヶ月以内に使いきるようにしています。また、尿素の分解を防ぐため、凍結保存した膨潤バッファーを溶かすときには、30℃以上に温めないでください。

7）膨潤バッファー量は弊社の推奨液量を使用してください。

8）Immobiline DryStripは使用期限内のものを使用してください。

9）Strip Holderは十分洗浄して使用してください。

それでも改善されない場合は、弊社バイオダイレクトライン（Tel：03-5331-9336）までご連絡ください。

Q. 泳動中にImmobiline DryStrip Cover Fluidが漏れる。

A. 泳動中にImmobiline DryStrip Cover Fluid（オイル）が漏れると、ゲルの乾燥やスパークの原因になることがあります。直ちに泳動を止め、以下の処置を行ってください。オイルの漏れている箇所によって対処方法が異なります。

【Strip HolderとStrip Holderのフタの間から漏れている】

添加したオイルが多いと、Strip HolderとStrip Holder Coverの間からオイルが漏れてしまいます。一度漏れ始めると、Strip Holder内のオイルがなくなるまで漏れ続ける場合もあります。オイルはゲル表面が覆われる程度で十分です。泳動を開始直後に漏れていることに気づいた場合は、漏れたオイルを拭き取り、その後泳動を再開することもできます。

【Strip Holderの裏側の電極部分から漏れている】

Strip Holder裏側の電極部分の劣化により、Strip Holderのセラミック部分と電極部分にできた隙間から漏れてしまうことがあります。Strip Holderは修理できないため、新しいものに交換してください。

Q. 泳動中にImmobiline DryStripが焦げる。

A. すぐにプログラムをストップさせてください。そのまま電気泳動を行うことは危険です。また、一度焦げてしまったゲルは使用することはできません。トラブル再発防止のために、以下のことを確認してください。

1）Immobiline DryStrip上にImmobiline DryStrip Cover Fluid（オイル）を添加していますか？

Immobiline DryStripは、乾燥を防ぐため泳動前にオイルで覆う必要があります。ゲル表面がオイルで完全に封入されていないと、ゲルが乾燥してしまう場合があります。

2）オイルが漏れていませんか？

オイル漏れは、ゲル乾燥の原因になります。漏れている場合は、上記のQ.を確認してください。

3）膨潤液中の塩濃度は10 mM以下になっていますか？

膨潤液中の荷電性物質の濃度が高いと、荷電性物質が電極へ移動すると同時に膨潤液中の水分も電極に移動し、ゲルが乾燥しやすくなります。IPG BufferやBPBも荷電性物質として作用しますので使用量に注意してください。

7 カスタマーサービスインフォメーション

6.1. テクニカルサービスと修理

GEヘルスケア バイオサイエンスは全ての自社製品につきまして、技術的サポートを提供いたします。この製品の使用方法についてのご質問、修理のご依頼がございましたら、電話かファックスにて弊社までご連絡ください。

6.2. ご注文情報

Ettan IPGphor II 等電点電気泳動システム

製品名	包装	コード番号
Ettan IPGphor II Isoelectric Focusing Unit	1 ユニット	80-6505-03
ヒューズ（1.6A、250V、5×20 mm）	5 個	80-6108-69
Cable Serial 9 Pin F/F with Null Modem Adapter	1 個	80-6506-36
Immobiline DryStrip Cover Fluid	1 L	17-1335-01
等電点用電極ろ紙	100 枚	18-1004-40
ストリップホルダー洗浄液	950 ml	80-6452-78
サーマルプリンター	1 ユニット	72-0496-01
プリンターケーブル	1 本	問合せ

ストリップホルダー

製品名	包装	コード番号
7 cm Strip Holder	6 本	80-6416-11
11 cm Strip Holder	6 本	80-6416-30
13 cm Strip Holder	6 本	80-6416-49
18 cm Strip Holder	6 本	80-6416-68
24 cm Strip Holder	6 本	80-6469-88
7 cm Strip Holder	1 本	80-6416-87
11 cm Strip Holder	1 本	80-6417-06
13 cm Strip Holder	1 本	80-6417-25
18 cm Strip Holder	1 本	80-6417-44
24 cm Strip Holder	1 本	80-6470-07
Cup Loading Strip Holder, Complete	3 本	80-6459-43
Cup Loading Manifold	1 個	80-6498-38
Immobiline DryStrip Reswelling Tray（7-18 cm）	1 個	80-6371-84
Immobiline DryStrip Reswelling Tray（7-24 cm）	1 個	80-6465-32

Immobiline DryStrip

製品名	包装	コード番号
7 cm		
pH 4-7	12 本	17-6001-10
pH 3-10	12 本	17-6001-11
pH 3-10NL	12 本	17-6001-12
pH 6-11	12 本	17-6001-94
11 cm		
pH 4-7	12 本	18-1016-60
pH 3-10	12 本	18-1016-61
pH 6-11	12 本	17-6001-95
13 cm		
pH 4-7	12 本	17-6001-13
pH 3-10	12 本	17-6001-14
pH 3-10NL	12 本	17-6001-15
pH 6-11	12 本	17-6001-96
18 cm		
pH 3.5-4.5	12 本	17-6001-83
pH 4.0-5.0	12 本	17-6001-84
pH 4.5-5.5	12 本	17-6001-85
pH 5.0-6.0	12 本	17-6001-86

18 cm		
pH 5.5-6.7	12 本	17-6001-87
pH 4-7	12 本	17-1233-01
pH 6-9	12 本	17-6001-88
pH 6-11	12 本	17-6001-97
pH 3-10	12 本	17-1234-01
pH 3-10NL	12 本	17-1235-01
24 cm		
pH 3.5-4.5	12 本	17-6002-38
pH 4.0-5.0	12 本	17-6002-39
pH 4.5-5.5	12 本	17-6002-40
pH 5.0-6.0	12 本	17-6002-41
pH 5.5-6.7	12 本	17-6002-42
pH 4-7	12 本	17-6002-46
pH 6-9	12 本	17-6002-47
pH 3-7NL	12 本	17-6002-43
pH 3-10	12 本	17-6002-44
pH 3-10NL	12 本	17-6002-45

IPG Buffer

製品名	包装	コード番号
IPG Buffer pH 3.5-5.0	1 ml	17-6002-02
IPG Buffer pH 4.5-5.5	1 ml	17-6002-04
IPG Buffer pH 5.0-6.0	1 ml	17-6002-05
IPG Buffer pH 5.5-6.7	1 ml	17-6002-06
IPG Buffer pH 4-7	1 ml	17-6000-86
IPG Buffer pH 6-11	1 ml	17-6001-78
IPG Buffer pH 3-10NL	1 ml	17-6000-88
IPG Buffer pH 3-10	1 ml	17-6000-87

Rehydration Solutions

製品名	包装	コード番号
DeStreak Rehydration Solution	5 × 3 ml	17-6003-19
DeStreak Reagent	1 ml	17-6003-18

電気泳動用試薬 ― PlusOneシリーズ

製品名	包装	コード番号
Acrylamide PAGE	250 g	17-1302-01
Acrylamide PAGE	1 kg	17-1302-02
Acrylamide IEF	250 g	17-1300-01
Acrylamide PAGE 40 % Solution	1 L	17-1303-01
Acrylamide IEF 40 % Solution	1 L	17-1301-01
N,N'-Methylene-bisacrylamide	25 g	17-1304-01
N,N'-Methylene-bisacrylamide	100 g	17-1304-02
N,N'-Methylene-bisacrylamide 2 % solution	1 L	17-1306-01
TEMED	25 ml	17-1312-01
Ammonium Persulphate	25 g	17-1311-01
Tris	500 g	17-1321-01
Glycine	500 g	17-1323-01
Sodium Dodecylsulphate (SDS)	100 g	17-1313-01
Urea	500 g	17-1319-01
CHAPS	1 g	17-1314-01
Triton X-100	500 ml	17-1315-01
Dithiothreitol (DTT)	1 g	17-1318-01
Bromophenol Blue	10 g	17-1329-01

PlusOne Sample Preparation Kits

製品名	包装	コード番号
Sample Grinding Kit	50 回分	80-6483-37
2-D Clean-Up Kit	50 回分	80-6484-51
Mini Dialysis Kit 1 kDa cut-off, up to 250 µl	50 回分	80-6483-75
Mini Dialysis Kit 1 kDa cut-off, up to 2 ml	50 回分	80-6483-94
Mini Dialysis Kit 8 kDa cut-off, up to 250 µl	50 回分	80-6484-13
Mini Dialysis Kit 8 kDa cut-off, up to 2 ml	50 回分	80-6484-32
2-D Quant Kit	500 回分	80-6483-56

Ettan IPGphor II 等電点電気泳動装置

Amersham Biosciences

First Dimension Protocol Worksheet

Program steps

```
Prot # _  File 1
Rehydrate  _ _:_ _Hr @ _ _ ºC
IEF @ _ _ ºC  _ _uA/Strip
_ Strips   _ Steps
```

```
Prot # _  _ steps
S1  Step or Grad
      _ _ _ _ V   _ _:_ _Hrs or _ _ _ _ _ Vhr
S2  Step or Grad
      _ _ _ _ V   _ _:_ _Hrs or _ _ _ _ _ Vhr
S3  Step or Grad
      _ _ _ _ V   _ _:_ _Hrs or _ _ _ _ _ Vhr
```

```
Prot # _  _ steps
S1  Step or Grad
      _ _ _ _ V   _ _:_ _Hrs or _ _ _ _ _ Vhr
S2  Step or Grad
      _ _ _ _ V   _ _:_ _Hrs or _ _ _ _ _ Vhr
S3  Step or Grad
      _ _ _ _ V   _ _:_ _Hrs or _ _ _ _ _ Vhr
```

```
Prot # _  _ steps
S1  Step or Grad
      _ _ _ _ V   _ _:_ _Hrs or _ _ _ _ _ Vhr
S2  Step or Grad
      _ _ _ _ V   _ _:_ _Hrs or _ _ _ _ _ Vhr
S3  Step or Grad
      _ _ _ _ V   _ _:_ _Hrs or _ _ _ _ _ Vhr
```

IPG**ストリップ** Preparation

膨潤液量

Immobiline DryStrip長(cm)	1本あたりの膨潤液量(µl)
7	125
11	200
13	250
18	340
24	450

膨潤液

	試薬濃度	容量
尿素	_____	_____
界面活性剤	_____	_____
還元剤	_____	_____
IPG Buffer pH ( )		_____
色素	_____	_____
サンプル	_____	_____
水		_____
総量		_____

Notes

Date _____

Researcher _____

Sample _____

膨潤

- ➡ 選んだIPGストリップの長さに適切な膨潤液量を使用します。
- ➡ Immobiline DryStrip Cover Fluidを添加します。
- ➡ ストリップホルダーにカバーをします。
- ➡ 最低10時間膨潤します。このステップはプロトコール中に組み込むことができます。

IPG ストリップ長 (cm)	1本あたりのバッファー量 (µl,サンプルを混合する場合はサンプルを含む)
7	125
11	200
13	250
18	340
24	450

等電点電気泳動

1. 各ストリップホルダーの電極が電極板に適切に接触するようにカバーをしたストリップホルダーをおきます。

2. 安全リッドを閉めます。3本のプレッシャーパッドのうち少なくとも2本が、各ストリップホルダーのカバーを押さえていることを確認します。

3. 電源スイッチを入れ、自己診断が終わるのを待ちます。

4. ↑↓キーを使って適切なプロトコールを選びます。または本マニュアル中の3.2.2.項にあるようにプロトコールプログラムを入力します。

   32ページにプロトコールプログラムワークシートがあります。ご利用ください。

5. STARTキーを押します。

推奨設定範囲	
プラットフォーム温度（℃）	膨潤： 20
	泳動： 20
ステップ時間（hrs）	膨潤： 10:00～14:00
	泳動： 2:00～10:00
推奨電流上限値	**50 µA/ストリップ**
電圧（V）	100～8000

GEヘルスケア バイオサイエンス株式会社

本 社 〒169-0073
東京都新宿区百人町3-25-1サンケンビルヂング

お問合せ：バイオダイレクトライン
TEL : 03-5331-9336　FAX : 03-5331-9370
e-mail : Tech-JP@ge.com

Home Page **http://www.gehealthcare.co.jp/lifesciences**

ISO 9001:2000認証取得

販売店

この印刷物は大豆インキにて印刷しています。
本書に掲載されている製品の名称、仕様などは改良のため予告なく変更される場合があります。

03.07.15（NS）